

## DETERMINAÇÃO POR ESPECTROMETRIA UV-VIS DE ANTIDEPRESSIVOS NO ESGOTO DA UTFPR-FB

### Determination by UV-Vis spectrometry of antidepressants in the UTFPR-FB sewage

#### RESUMO

Com o crescente aumento de diagnósticos de depressão e ansiedade ocorre, como consequência, o aumento do uso de medicamentos antidepressivos, como por exemplo a Fluoxetina. Esses medicamentos têm sua concentração cada vez maior no meio ambiente e isso se deve pelo fato das estações de tratamento de esgoto não serem adequadas para o tratamento desse tipo de poluente. Para as pesquisas que têm o objetivo de detectar ou quantificar esses medicamentos no meio ambiente e/ou no esgoto não serem contestadas, faz-se necessário o uso da validação da metodologia. Assim, este trabalho visou validar e quantificar a presença de antidepressivos no esgoto da UTFPR-FB por meio de espectrometria UV-Vis. A metodologia utilizada para análise de fluoxetina no esgoto foi adaptada da Farmacopeia Brasileira e mostrou-se exata e precisa. A curva de calibração por adição de padrão teve  $R^2$  igual a 0,99. O limite de quantificação para o método foi de 0,77 mg/L. A concentração encontrada de fluoxetina no esgoto foi de 0,95 mg/L.

**PALAVRAS-CHAVE:** Fluoxetina. Efluente. Validação de Metodologia.

#### ABSTRACT

With the increase in diagnoses of depression and anxiety, the use of antidepressant medications such as fluoxetine is increasing. These drugs are increasingly concentrated in the environment and this is due to the fact that wastewater treatment plants are not suitable for the treatment of this type of contaminants. For research that aims to detect or quantify these drugs in the environment and/or wastewater is not questioned, it is necessary to use the validation of the methodology. Therefore, this work aimed to validate and quantify the presence of antidepressants in UTFPR-FB wastewater by UV-Vis spectrometry. The methodology used for the analysis of fluoxetine in wastewater was adapted from the Brazilian Pharmacopoeia and proved to be precise and precise. The standard addition calibration curve had  $R^2$  equal to 0.99. The limit of quantification for the method was 0.77 mg/L. The concentration of fluoxetine found in wastewater was 0.95 mg/L.

**KEYWORDS:** Fluoxetine. effluent. Validation of the Methodology.

Anderson Kalinoski  
UTFPR – Francisco Beltrão  
[kalinowski@alunos.utfpr.edu.br](mailto:kalinowski@alunos.utfpr.edu.br)

Silvane Morés  
UTFPR – Francisco Beltrão  
[mores@utfpr.edu.br](mailto:mores@utfpr.edu.br)

Fernanda Batista de Souza  
UTFPR – Francisco Beltrão  
[fernandasouza@utfpr.edu.br](mailto:fernandasouza@utfpr.edu.br)

Adir Silvério Cembranel  
UTFPR – Francisco Beltrão  
[adircembranel@utfpr.edu.br](mailto:adircembranel@utfpr.edu.br)

## INTRODUÇÃO

Como consequência do aumento exponencial de diagnósticos de depressão e ansiedade, houve significativo aumento do uso de medicamentos para essas duas doenças que são consideradas o mal de século. Esses medicamentos estão se tornando cada vez mais comum no meio ambiente, como comprovado por Maet al. (2018) que mostraram a ineficiência dos sistemas de tratamento de esgoto na remoção de antidepressivos e ansiolíticos e também detectaram a presença de sete drogas antidepressivas distintas no rio onde o efluente tratado era despejado. Além disso, o estudo mostrou que hospitais e indústrias de produção desses medicamentos tem parcela significativa na contaminação desses ecossistemas.

Para os dados de uma dada pesquisa, como a de Maet al. (2018), serem considerados confiáveis e não comprometerem as conclusões do estudo, é necessária a validação da metodologia de análise, que para Skoog et al. (2014) é composta pelas seguintes etapas: exatidão, precisão, sensibilidade, limite de detecção e faixa linear de trabalho.

Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi o de propor e validar uma metodologia para detecção e quantificação do medicamento antidepressivo Fluoxetina no esgoto da UTFPR-FB por espectrometria UV-VIS.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Os reagentes, vidrarias e equipamento necessários para realizar a pesquisa estão descritos no Quadro 1.

Quadro 1 – Materiais utilizados

Vidrarias	Equipamentos	Reagentes
Béquer	Espectro UV-VIS	HCL 0,1 mol/L
Proveta	Agitador magnético	Fluoxetina 20 mg
Micropipeta	Centrifuga	

Fonte: Autoria própria (2019).

A análise do medicamento Fluoxetina teve como base a metodologia descrita pela Farmacopeia Brasileira (FARMACOPEIA, 2010) e a análise se deu por espectrometria de absorção molecular no UV-Vis.

As amostras de esgoto foram coletadas com auxílio de recipiente plástico no esgoto principal da UTFPR *campus* Francisco Beltrão antes do tratamento, aonde havia sido realizado apenas a filtração para eliminar as partes grossas do esgoto. As amostras foram filtradas e centrifugadas, a fim de reter sujidades que interferiram nas leituras de absorvância.

Um comprimido de Fluoxetina de 20 mg foi utilizado para o preparo de uma solução estoque utilizando 100 mL de ácido clorídrico 0,1 mol/L como solvente. Uma curva de calibração por adição de padrão foi construída a partir de diluições desta solução estoque em esgoto (na amostra) para o preparo de soluções com concentrações entre 1 e 40 mg/L. Absorvâncias das soluções resultantes foram medidas no comprimento de onda 227 nm, utilizando ácido clorídrico 0,1 mol/L para ajuste do zero. Todas as medidas foram feitas em triplicata.

A validação da metodologia foi feita seguindo os seguintes critérios:

- i. Regressão linear;
- ii. Coeficiente de Pearson;
- iii. Sensibilidade;
- iv. Linearidade;
- v. Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ):

$$LD = \frac{3,3s}{a} \quad (1)$$

$$LQ = \frac{10s}{a} \quad (2)$$

Quando  $s$  é o desvio-padrão de 10 medidas do branco e  $a$  é o coeficiente angular da curva de calibração;

- vi. Precisão: dez medidas da mesma solução em três níveis diferentes de concentração; e
- vii. Exatidão: foi medida pela recuperação.

$$\text{Recuperação}(\%) = \frac{\text{conc.medida}}{\text{conc.adicionada}} \times 100 \quad (3)$$

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No Quadro 2 estão mostrados os valores de absorvância média para cada uma das soluções de concentrações de fluoxetina.

Quadro 2 – Absorvâncias medidas para as soluções de fluoxetina.

Absorvância Média	Desvio Padrão	Concentração (mg/L)
0,786	0,074	40
0,400	0,004	20
0,244	0,008	13,3
0,174	0,004	10
0,056	0,002	4
0,014	0,001	2
0,010	0,002	1,3
0,002	0,001	1

Fonte: Autoria própria (2019).

Com os dados do Quadro 2 foi possível obter-se a curva de calibração e com ela os parâmetros de validação da metodologia expostos no Quadro 3.

Quadro 3 – Parâmetros de validação.

Parâmetro	Resultado
Regressão Linear	$Y=0,02.x-0,021$
Coefficiente de Pearson	$R^2=0,999$
Sensibilidade	0,02 L/mg
Faixa de trabalho	1 a 40 mg/L
Limite de Detecção	0,26 mg/L
Limite de Quantificação	0,77mg/L
Quantidade de Fluoxetina no esgoto	0,95 mg/L

Fonte: Autoria própria (2019).

Através do Quadro 3 foi possível extrair várias informações importantes da curva de calibração encontrada. Inicialmente, pelo coeficiente de Pearson, podemos afirmar que a faixa de trabalho selecionada, ou seja, de 1 a 40 mg/L, é linear.

Também foi possível analisar a sensibilidade do método que pode ser considerada boa, pois quanto maior seu valor, menor o limite de quantificação. E quando se trabalha com medicamentos, quando menor for o limite de quantificação, melhor é o método, pois os medicamentos estão dissolvidos em concentrações muito baixas no esgoto.

Por fim, podemos calcular a quantidade de fluoxetina no esgoto bruto, como sendo o ponto que a reta corta o eixo X, ou seja, quando a absorvância é zero. Fazendo isso obtemos uma concentração de 0,95 mg/L, essa concentração é maior que o limite de quantificação do método então podemos afirmar que essa era a concentração real de fluoxetina no efluente trabalhado.

Quadro 4 – Parâmetros de Precisão

Concentração	Desvio Padrão	Desvio Padrão
		Relativo
20 mg/L	0,0025	0,60%
4 mg/L	0,0007	1,29%
0,4 mg/L	0,0012	13,4%

Fonte: Autoria própria (2019).

No Quadro 4, temos os resultados da análise de precisão para o método. Segundo a RE 899/2003 da ANVISA, para um método ser considerado preciso, o desvio-padrão relativo deve ser menor que 5%. Nas concentrações de 4 e 20 mg/L esse parâmetro segue os termos da resolução, portanto, poderiam ser considerados precisos. Porém, na concentração de 0,4 mg/L, o desvio-padrão relativo ultrapassa de forma significativa os 5%, isso se deve pelo fato de 0,4 mg/L estar bem abaixo do limite de quantificação e da faixa de trabalho da curva de calibração. Assim, novos estudos serão realizados, em níveis de concentração diferentes, para que se possa afirmar a precisão do método.

Quadro 5 – Parâmetros de Exatidão

Concentração	Absorvância	Absorvância	Recuperação
	Teórica	Prática	
33,3 mg/L	0,645	0,730	88,3%
6,67 mg/L	0,112	0,125	89,6%
1,11 mg/L	0,001	0,0012	83,3%

Fonte: Autoria própria (2019).

No Quadro 5 estão apresentados os valores de recuperação. A RE 166/2017 da ANVISA determina que para um método ser exato a recuperação deve estar entre 80% a 120%. Como a recuperação de todas as concentrações utilizadas para essa etapa resultaram em valores maiores que 80%, pode-se considerar o método exato.

### CONCLUSÃO

Através dos experimentos e métodos aplicados, pode-se concluir que a metodologia adaptada da Farmacopeia Brasileira para análise de fluoxetina no esgoto é precisa e exata dentro da faixa de trabalho utilizada. Porém, como o esgoto não é uniforme e padrão, a curva de calibração deve ser realizada toda vez que análise de fluoxetina for feita em esgoto, para evitar erros e aumentar a confiabilidade dos resultados.

Um resultado preliminar mostra uma concentração de fluoxetina em esgoto de 0,95 mg/L. Mais estudos devem ser feitos para que se possa estabelecer a concentração real de fluoxetina no esgoto da UTFPR-FB e para afirmar se esse é ou não um valor preocupante. Também serão determinadas as concentrações de fluoxetina antes e após o tratamento do esgoto, para se conhecer a eficiência do método empregado atualmente neste *campus*.

Outra intenção é fazer o estudo da presença de outros medicamentos antidepressivos no esgoto antes e após o tratamento atual.

### AGRADECIMENTOS

Agradeço a UTFPR, em especial ao *campus* de Francisco Beltrão pela oportunidade de realizar esse trabalho que auxiliou tanto no meu crescimento profissional quando pessoal. Agradeço também a Prof.<sup>ª</sup> Dr.<sup>ª</sup> Silvane Morés, Prof.<sup>ª</sup> Dr.<sup>ª</sup> Fernanda Batista de Souza e Prof.<sup>º</sup> Dr.<sup>º</sup> Adir Silvério Cembranel pelo apoio incondicional em todas as etapas de desenvolvimento desse projeto.

## REFERÊNCIAS

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Org.). **Farmacopeia Brasileira**. 5. ed. Brasília: Fundação Oswaldo Cruz, 2010. 899 p. 2 v.

BRASIL ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 899, 29/05/2003 . Guia para validação de métodos analíticos - Maio, 2003

BRASIL ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC Nº 166, 24/07/2017 .Guia para validação de métodos analíticos - Julho, 2017

MA, Luo-danet al. Occurrence and source analysis of selected antidepressants and their metabolites in municipal wastewater and receiving surface water. **Environmental Science: Processes & Impacts**, [s.l.], v. 20, n. 7, p.1020-1029, 2018. Royal Society of Chemistry (RSC).<http://dx.doi.org/10.1039/c8em00077h>

SKOOG, Douglas A. et al. **Fundamentos de Química Analítica**. 9. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2014. 1088 p.